

文章编号: 1001-1498(2007)01-0143-04

杉木优良品种—龙₁₅的同工酶分析

齐 明

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400)

关键词: 杉木龙₁₅ 等位酶; 杂合位点; 相关

中图分类号: S791.27 文献标识码: A

Isozyme Analysis on Excellent Variety of *Cunninghamia lanceolata* “Dragon₁₅”

QIMing

(Research Institute of Subtropical Forestry CAF, Fuyang 311400, Zhejiang China)

Abstract The results of a series of progeny tests showed that “dragon₁₅” (*Cunninghamia lanceolata*) had the characters of rapid growth, excellent quality and high resistance. Though a series of exploring experiments by means of polyacrylamide gel electrophoresis technique, 5 allozyme systems, amounting to 7 allozyme loci were found out: GOT-1, GOT-2, GOT-3, FDH, MNR-2, ME, α -amylase. Genetic types of several Chinese fir parents in biclonal seed orchard of 11-year-old were confirmed by use of allozyme technique. The results indicated there was a obvious relationship between offspring's performances of parent clones and its heterozygous locus numbers. The genetic foundation of biochemistry that the offspring of “dragon₁₅” had rapid growth, excellent quality and high resistance is because it possessed more heterozygous numbers. 5 of 7 allozyme loci in total: GOT-1, GOT-2, GOT-3, FDH, MNR-2. The heterozygous locus numbers could be used to early identification and early selection.

Key words *Cunninghamia lanceolata* “dragon₁₅”; allozyme; heterozygous locus numbers; relationship

杉木 (*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook.) 是我国南方重要的造林树种, 不论是营造用材林, 还是发展生态林业, 在林业生产中占有重要地位。杉木龙₁₅ 是中国林科院亚热带林业研究所杉木课题组与浙江省龙泉市林科所于 20 世纪 80 年代选育出的一个优良品种。经多年多地点试验证明, 杉木龙₁₅ 具有速生、优质、抗逆的优良特性^[1], 被浙江省林木良种审定委员会定为全省第一号杉木良种。在杉木遗传改良工作中, 同工酶与经济性状间的相关研究鲜有报道。作者借助同工酶技术, 对杉木龙₁₅ 速生、优质、高抗的遗传学基础进行分析, 为龙₁₅ 的进一步推广应用和林木早期鉴定提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究材料

研究亲本材料来自浙江省遂昌县杉木双系种子园, 详见参考文献 [2]。(1) 各亲本的遗传型 (即等位酶位点的杂合/纯合信息) 利用 10 粒种子的胚乳材料加以确定: 选用 100 粒正常种子进行发芽, 胚根生长到 5 mm 时进行胚和胚乳的剥离, 将胚乳放到 1.5 mL 离心管中研磨, 然后用酶提取液提取, 进行同工酶实验。以该种子园中其它亲本无性系 (133Q、136Q、127Q、141Q、139I、阳₁₁、阳₁₅、126Q、1244、1236 号无性系) 为参照对象, 评价龙₁₅ 杂合位点数多寡。

收稿日期: 2005-11-29

基金项目: 浙江省自然科学基金项目“杉木双系种子园中的近交及其控制研究”(399464)资助

作者简介: 齐明 (1962—), 男, 湖北新洲人, 硕士, 副研究员。

(2)评价龙₁₅经济性状表现优劣的材料是根据该种子园近交效应研究时采用的资料。

1.2 同工酶电泳实验

采用高清晰、高分辨率的垂直平板聚丙烯酰胺凝胶电泳技术研究^[2-4]。

1.2.1 预备试验 查明最优的酶提取液为: 0.1 mol·L⁻¹ Tris-HCl (pH 7.8), 加入 20% 蔗糖 + 1% EDTA + 1% PVP + 1% 巯基乙醇 (pH 7.8)。查明各酶系统最优的电极缓冲系统为: 电极缓冲体系 0.1 mol·L⁻¹ Tris-H₃BO₃-EDTA (pH 8.1), 凝胶缓冲体系 0.075 mol·L⁻¹ Tris-柠檬酸 (pH 7.5), MNR 的凝胶缓冲体系 0.075 mol·L⁻¹ Tris-柠檬酸 (pH 6.1)。查明最适的凝胶浓度为: 多数参试酶系统为 4% (成层胶) × 8% (分离胶), 而 MNR 为 4.0% (成层胶) × 9.1% (分离胶)。

1.2.2 等位酶的筛选 参考杉木和马尾松 (*Pinus massoniana* Lamb) 中淀粉酶的同工酶研究结果^[2,5-7], 选择 20 个酶系统参与预备试验, 确定谷氨酸草酰乙酸转氨酶 (GOT, E. C. 2.6.1.1)、甲酸脱氢

酶 (FDH, E. C. 1.2.1.2)、维生素 K3 降解酶 (MNR, E. C. 1.6.99.2)、α-淀粉酶 (α-amylase, E. C. 3.2.1.1) 和苹果酸酶 (ME, E. C. 1.1.1.40) 5 个酶系统等位酶系统, 共 7 个等位酶位点可用于本研究。

1.3 研究方法

将杉木亲本无性系等位酶杂合位点数多寡与其后代综合表现顺序进行比较分析, 用以揭示龙₁₅速生、优质、高抗的生化遗传基础。

2 结果与分析

2.1 龙₁₅等杉木亲本无性系的等位酶杂合位点信息

经聚丙烯酰胺凝胶电泳实验发现, 5 个等位酶系统中, 龙₁₅有 3 个酶系统在 GOT-1、GOT-2、GOT-3、FDH、MNR-2 共 5 个等位酶位点是杂合的 (图 1~3)。在杉木中 α-淀粉酶 (α-amylase) 和苹果酸酶 (ME) 均是一个位点控制的单体。同工酶实验揭示, 在龙₁₅中, α-淀粉酶和苹果酸酶是单态纯合 (为节省篇幅, 示意图从略)。



图 1 龙₁₅ 10 粒胚乳 FDH 电泳示意 (FDH 是一个位点、2 个等位基因编码的二聚体)

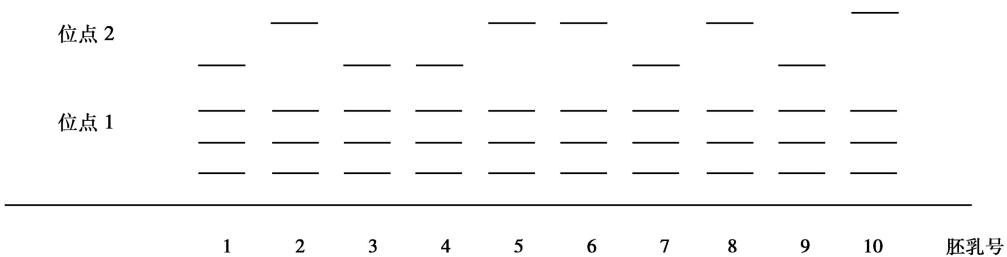


图 2 龙₁₅ 10 粒胚乳 MNR 电泳示意 (MNR-2 也是两个等位基因编码的二聚体)

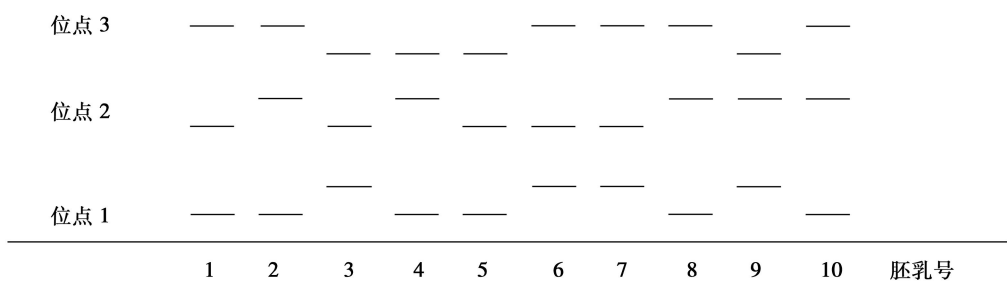


图 3 龙₁₅ 10 粒胚乳 GOT 电泳示意 (GOT 也是 2 个等位基因编码的二聚体)

其它参试杉木亲本无性系的杂合位点信息是: 位点, 其它等位酶位点是纯合的。1339 无性系有 1336 无性系有 GOT-1、GOT-2 和 MNR-2 共 3 个杂合位点, 其它等 GOT-1、α-淀粉酶和苹果酸酶 3 个杂合位点, 其它等

位酶位点是纯合的。通常双系种子园中的其它无性系一般仅有 1、2 个杂合位点, 而一些生长较差的无性系在所检测的等位酶系统中多为纯合位点, 个别亲本如 1244 甚至没有杂合位点。

2.2 龙₁₅等杉木亲本无性系后代试验评价

以往浙江省对杉木优良品种龙₁₅的采种和推广造林, 均是采用龙泉市林科所杉木种子园的材料进行研究获得的。浙江省遂昌县杉木双系种子园的建园材料, 选择层次较高, 是从该省不同区域的杉木种子园中经精选而来。表 1 列举了浙江省遂昌县杉木双系种子园中若干无性系近交

表 1 浙江省遂昌县杉木双系种子园中 28 个品系苗期测定的部分结果

无性系号	成苗数	1 年生苗高 /cm	2 年生苗高 /cm	2 年生地径 /mm	总生物量 /g	生物量之比 (地上 / 地下)	指数值 I
龙 ₁₅	146	37.5	70.8	7.06	22.06	6.31	19.6615
1339	118	31.6	57.8	6.54	17.03	6.60	16.8723
1366	91	32.0	59.3	7.29	22.30	6.36	15.9772
1391	68	30.0	56.9	7.14	24.43	6.69	14.6382
1278	77	27.7	52.9	6.15	14.79	5.90	13.9155
1419	44	24.3	46.0	6.72	18.82	5.99	11.8699
不同性状间 F 值	4.7204*	14.27**	9.9827*	2.9641**	2.6560**	2.1690*	
遗传力	0.7882	0.9299	0.8998	0.6626	0.6235	0.5390	
表型标准差	17.5148	8.1948	15.1741	1.9233	342.2652	1.5711	

注: * 和 ** 分别表示达到 1% 和 0.1% 统计水平的差异性。

由表 1 可见, 参试无性系在各研究性状上存在显著差异, 从指数值的综合评价结果可知, 龙₁₅ > 1339 > 1366 > 1391 > 1278 > 1419。

2.3 龙₁₅等位酶信息与表型性状间的相关分析

杉木亲本无性系等位酶分析结果显示, 龙₁₅杂合位点数多于 1339 无性系, 1339 无性系的杂合位点数与 1366 无性系相当, 而 1366 无性系杂合位点数多于 1391 无性系, 1391 无性系杂合位点数多于 1278 无性系, 1278 无性系杂合位点数等于 1419 无性系的杂合位点数。

将浙江省遂昌县杉木双系种子园中的亲本无性系的等位酶杂合位点数与表 1 中各亲本无性系指数值大小排秩顺序进行比较, 可以发现, 亲本杂合位点数多少的次序与其表型指数值大小排秩顺序是一致的。数量性状遗传分析结果与等位酶杂合位点数多少具有一致的趋势, 即参试的杉木品种的后代表现与等位酶杂合位点数明显相关。

杉木亲本无性系等位酶的分析结果揭示了龙₁₅具有众多的杂合位点: 5 个等位酶系统的 7 个等位酶位点中共有 5 个位点是杂合的。所以, 可以认为杉木龙₁₅速生、优质、高抗的生化遗传基础可能是由于该亲本拥有多个等位酶杂合位点。

效应研究的部分结果, 目的是评价龙₁₅自由授粉后代的表现优劣。

由于本研究中, 各研究性状间呈正相关, 故可用指数公式进行优良品种的综合评定, 即:

$$I = \sum_{i=1}^n (w_i \times h_i^2 \times x_i / \sigma_p)$$

上式中: w_i 为经济权重, 这里令 $w_i = 1$; h_i^2 为性状遗传力; σ_p 为表型标准差; x_i 为性状均值。由此可得, $I = 0.0450X_1 + 0.1135X_2 + 0.0593X_3 + 0.3445X_4 + 0.0018X_5 + 0.3431X_6$ 。利用此指数公式计算得的部分参试材料的指数值列于表 1。

3 小结与问题讨论

(1) 根据浙江省遂昌县杉木双系种子园 11 个亲本后代小试以及亲本的等位酶分析发现, 亲本的后代表现与亲本的等位酶杂合位点数具有明显的相关性。杉木优良品种龙₁₅后代速生、优质、高抗的生化遗传基础可能是该亲本具有多个等位酶杂合位点 (即 GOT-1、GOT-2、GOT-3、FDH、MNR-2)。通过杉木亲本无性系材料的研究发现, 等位酶杂合信息与若干经济性状间存在相关, 其研究结果不仅对于龙₁₅的推广应用具有理论意义, 而且对其它林木的早期鉴定和早期选择具有参考价值。

(2) 同工酶作为一种遗传标记在林木遗传改良中有着广泛的应用^[8,9], 但同工酶与表型性状的相关研究是一个富有争议的问题, 其研究结果与研究材料、性状、方法和科研技术水平等因素密切相关^[10~19]。在林木遗传改良领域中, 有关群体遗传学研究 (关于种子园选择群体与天然群体的遗传多样性比较研究) 的一个公认的事实是: 通常天然群体纯合体过量, 而由天然群体入选的优树组成的选择群体 (如育种园或初级种子园), 其杂合体过量^[20~25]。国内外在马尾松、油松 (*Pinus tabulaeformis* Carr.),

火炬松 (*P. taeda* Linn)、海岸花旗松 (*Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii* (Muhl.) Franco)、北美云杉 (*Picea sitchensis* (Bong) Carr)、白云杉 (*P. glauca* (Moench) Voss)、班克松 (*P. banksiana* Lamb.) 等树种不同世代的遗传结构研究中, 几乎都发现这一事实。这一结论无可辩驳地说明这样一个问题: 即一些等位酶系统杂合信息与表型选择性状存在某种程度的相关。因为优树的选择是按生长形质等表型性状进行选择, 而非按同工酶性状进行选择, 但终选的结果, 同工酶分析却证明选择群体中杂合体过量, 这无疑说明表型性状与等位酶杂合信息是相关的, 酶性状杂合的树木有较优的表型值, 选择有利于杂合体。由此可见, 同工酶的杂合信息与林木表型性状之间存在一定的正相关。本研究结果与以上引用论文中的研究结论是一致的。

参考文献:

- [1] 支济伟, 陈益泰, 李恭学. 以龙₁₅为共同母本的杉木杂交后代的变异和选择 [A]. 见: 中国林科院亚热带林业研究所. 浙江省“八五”攻关专题研究报告: 杉木材性遗传变异和改良策略研究 [R]. 中国林科院亚热带林业研究所, 1995 25~ 31
- [2] 齐明. 杉木双系种子园异交率的初步研究 [J]. 林业科学研究, 2004, 17(专刊): 71~ 77
- [3] 葛颂. 用同工酶研究马尾松群体的遗传结构 [D]. 南京: 南京林业大学, 1986
- [4] 张维强, 唐秀芝. 同工酶与植物遗传育种 [M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1993: 140~ 189
- [5] 王启和, 托马斯·格布雷克. 杉木 9 个酶系统同工酶位点的遗传和连锁 [J]. 四川林业科技, 1992 13(3): 1~ 8
- [6] 施季森, 叶志宏. 杉木遗传多态性与多基因位点遗传结构 [J]. 南京林业大学学报, 1993 17(3): 9~ 14
- [7] 赖焕林. 马尾松交配系统研究 [D]. 南京: 南京林业大学, 1998
- [8] 王明麻, 黄敏仁. 用同工酶分析法鉴定黑杨派无性系 [J]. 南京林产工业学院学报, 1982(1): 105~ 111
- [9] 黄敏仁, 陈道明. 杂种马褂木的同工酶分析 [J]. 南京林产工业学院学报, 1979(1/2): 156~ 158
- [10] Aradhya K M, Phillips V D. Lack of association between allozyme heterozygosity and juvenile traits in *Eucalyptus* [J]. New Forests 1995, 9(2): 97~ 110
- [11] Arcade A, Favire R, Rampant P, Leguerrou B, et al. Heterozygosity and hybrid performance in larch [J]. Theoretical and Applied Genetics 1996 93(8): 1274~ 1281
- [12] Britten H B. Meta-analyses of the association between multilocus heterozygosity and fitness [J]. Evolution 1996 50(6): 2158~ 2164
- [13] Bush R M, Snouse P E, Ledig F T. The fitness consequences of multiple locus heterozygosity: the relationship between heterozygosity and growth rate in pitch pine [J]. Evolution 1987 41(4): 787~ 798
- [14] Govindaraju D R, Danck B P. Relationship between allozyme heterozygosity and biomass production in jack pine under different environmental conditions [J]. Heredity 1986 57(2): 145~ 148
- [15] Knowles P, Grant M C. Genetic patterns associated with growth variability in ponderosa pine [J]. American Journal of Botany, 1981, 68(7): 942~ 946
- [16] Mitton J B, Shuster W S F, Cohan E G, et al. Correlation between the individual heterozygosity of parents and their offspring [J]. Heredity, 1993, 71(1): 59~ 63
- [17] Mitton J B, Knowles P, Sturgeon K B, et al. Associations between heterozygosity and growth rate variables in three western forest trees [A]. In Conkle M T. Proceedings of the symposium on isozymes of North American forest trees and forest insects [C]. Berkeley Pacific Southwest Forest and Range Experiment Station, 1979 27~ 34
- [18] Savolainen O, Hedrick P. Heterozygosity and fitness: no association in scots pine [J]. Genetics 1995, 140(2): 755~ 842
- [19] Strauss S H. Heterozygosity and developmental stability among inbred and crossed trees of knob cone pine [J]. Evolution 1987 41(2): 331~ 339
- [20] 李悦. 油松育种系统遗传多样性研究 [J]. 北京林业大学学报, 2000 22(1): 12~ 19
- [21] Schmidting R C, Carroll E, LaFarge T. Allozyme diversity of selected and natural loblolly pine populations [J]. Silvae Genetica, 1999 48(1): 35~ 45
- [22] ElKassaby Y A, Szklai O. Genetic variation of allozyme and quantitative traits in a selected Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii* (Muhl.) Franco) population [J]. Forest Ecology and Management, 1982, 4(2): 115~ 126
- [23] Chaisurisri K, ElKassaby Y A. Genetic diversity in a seed production population vs natural populations of Sitka spruce [J]. Biodiversity and Conservation 1994, 3(6): 512~ 523
- [24] Godt M J W, Hamrick J L, Edwards-Burke M A, et al. Comparison of genetic diversity in white spruce (*Picea glauca*) and jack pine (*Pinus banksiana*) seed orchards with natural populations [J]. Canadian Journal of Forest Research 2001, 31(6): 943~ 949
- [25] Konnerth V M. Comparison of the genetic structure of different generations naturally regenerated spruce stands in the Black Forest [J]. Silvae Genetica 1991, 40(2): 60~ 65